

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623416>

Блокада активности гистондеацетилаз влияет на транскрипцию и сплайсинг нейрональных и глиальных генов

А.А. Бородинова*, А.П. Белецкий, П.М. Балабан

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук, Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Исследование молекулярных механизмов, лежащих в основе пластических процессов в нервной системе, представляет большой интерес в современной нейробиологии. Важно понимать, что эпигенетические модификации, которые рассматривают в аспектах развития и клеточной дифференцировки, могут также вовлекаться в пластические процессы уже во взрослой нервной системе.

В нашей ранней работе мы приводили доказательства того, что экспрессия важных генов, связанных с памятью, таких как *Prkcz* и *Prkci*, может регулироваться эпигенетически [1]. В данной работе мы расширили предыдущее исследование до системного уровня, применив подход РНК-секвенирования для оценки изменения паттернов экспрессии различных генов при индукции эпигенетических перестроек. Для этого культуры кортикальных нейронов крысы инкубировали с одним из неселективных ингибиторов гистондеацетилаз (трихостатин А, TSA; бутират натрия, NaB) для изменения уровня эпигенетической регуляции. Далее суммарную РНК выделяли и использовали для подготовки библиотек и последующего NGS-секвенирования.

Биоинформатический анализ транскриптомных данных выявил существенное перекрытие дифференциально экспрессированных генов (DEG) в группах, обработанных NaB и TSA, свидетельствуя, что различные по химической структуре ингибиторы гистондеацетилаз (HDAC) индуцируют транскрипционные изменения в первичных культурах нейронов через общие регуляторные пути. Мы обнаружили, что блокада гистондеацетилаз сопровождается переходом от пролиферативных процессов к клеточной дифференцировке. Анализ геной онтологии (GO) датасетов DEG генов показал, что значительная доля генов, увеличивающих уровень экспрессии в ответ на добавление ингибиторов HDAC, была связана со специализацией клеток, тканевым и эмбриональным морфогенезом, развитием различных периферических тканей и органов. Напротив, гены, снижающие уровень экспрессии при индукции эпигенетических перестроек, были вовлечены в биологические процессы, связанные с пролиферацией клеток и, что особенно интересно, специализацией различных клеток мозга (нейроны, астроциты, олигодендроциты). Было показано, что экспрессия целого ряда глиальных маркеров, характерных для астроцитов и олигодендроцитов, была значительно снижена после добавления ингибиторов HDAC, что также подтверждается результатами количественного ПЦР с использованием специфических пар праймеров на выбранные гены мишени. В ходе анализа данных мы также обнаружили значительное снижение экспрессии различных нейрональных маркеров, связанных с цитоскелетом, организацией пре- и постсинаптических окончаний, синаптической передачей.

Известно, что тонкая регуляция различных процессов в центральной нервной системе обусловлена производством различных изоформ белков с одного и того же гена за счёт процесса альтернативного сплайсинга образующейся мРНК. Согласно данным литературы, эпигенетические перестройки создают определенное окружение для регуляции альтернативного сплайсинга [2, 3]. Показано, что образование альтернативных продуктов может играть важную роль в различных пластических процессах [4, 5]. Учитывая вышесказанное, мы проанализировали возможность альтернативного сплайсинга генов при индукции эпигенетических перестроек в культурах кортикальных нейронов крысы, оценив количество различных изоформ транскриптов по представленности отдельных экзонов с помощью пакетов программ IsoformSwitchAnalyzeR и DEXSeq. Мы обнаружили, что некоторые глиальные гены и большое количество нейрональных генов, в особенности связанных с постсинаптической организацией и клеточной коммуникацией, подвергаются альтернативному сплайсингу при добавлении ингибиторов гистондеацетилаз. Ингибирование активности HDAC в культурах кортикальных нейронов в основном влияло на выбор альтернативных стартов (ATSS) и терминаторов транскрипции (ATTS), и, в меньшей степени, на альтернативный сплайсинг экзонов. Полученные данные были выборочно подтверждены результатами количественного ПЦР с использованием специфических пар праймеров на отдельные экзоны разных изоформ транскриптов.

Рукопись получена: 15.05.2023

Рукопись одобрена: 26.11.2023

Опубликована online: 20.01.2024

Таким образом, в ходе нашего исследования, удалось установить, что гистондеацетилазы играют важнейшую роль в специализации различных клеток мозга, а подавление их активности влияет на экспрессию и альтернативный сплайсинг различных глиальных и нейрональных генов-маркеров. Мы не исключаем, что глобальные изменения транскриптома, вызванные сплайсингом генов, будут приводить к качественным перестройкам сети нейронов, что является направлением будущих исследований.

Ключевые слова: эпигенетика; ацетилирование гистонов; транскрипция; альтернативный сплайсинг; гены пластичности.

Как цитировать:

Бородинова А.А., Белецкий А.П., Балабан П.М. Блокада активности гистондеацетилаз влияет на транскрипцию и сплайсинг нейрональных и глиальных генов // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 4. С. 698–701. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623416>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Borodinova A.A., Kuznetsova M.A., Alekseeva V.S., Balaban P.M. Histone acetylation determines transcription of atypical protein kinases in rat neurons // *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9, N 1. P. 4332. doi: 10.1038/s41598-019-40823-z
2. Hnilicová J., Hozeifi S., Dušková E., et al. Histone deacetylase activity modulates alternative splicing // *PLoS One*. 2011. Vol. 6, N 2. P. e16727. doi: 10.1371/journal.pone.0016727
3. Kim Y.E., Park C., Kim K.E., Kim K.K. Histone and RNA-binding protein interaction creates crosstalk network for regulation of alternative splicing // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018. Vol. 499, N 1. P. 30–36. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.03.101
4. Ding X., Liu S., Tian M., et al. Activity-induced histone modifications govern Neurexin-1 mRNA splicing and memory preservation // *Nature Neuroscience*. 2017. Vol. 20, N 5. P. 690–699. doi: 10.1038/nn.4536
5. Sengar A.S., Li H., Zhang W., et al. Control of long-term synaptic potentiation and learning by alternative splicing of the NMDA receptor subunit GluN1 // *Cell Reports*. 2019. Vol. 29, N 13. P. 4285–4294.e5. doi: 10.1016/j.celrep.2019.11.087

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

* А.А. Бородинова; адрес: Российская Федерация, 117485, Москва, ул. Бутлерова д. 5А; e-mail: borodinova.msu@mail.ru

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623416>

Blockade of histone deacetylase activity affects transcription and splicing of neuronal and glial genes

A.A. Borodinova*, A.P. Beletskiy, P.M. Balaban

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

The investigation into the molecular mechanisms that govern plastic processes in the nervous system holds significant interest to modern neuroscience. Importantly, epigenetic modifications, which play a central role in cellular differentiation and development, may also influence adult nervous system plasticity.

In our previous research, we presented evidence indicating the epigenetic regulation of significant memory-related genes, including *Prkcz* and *Prkci* [1]. In this study, we further explored the subject at the systemic level through the application of RNA sequencing to assess the widespread alterations in the expression of several genes during the induction of epigenetic rearrangements. Rat cortical neurons were treated with nonselective inhibitors of histone deacetylases, including trichostatin A (TSA) and sodium butyrate (NaB), to alter the level of epigenetic regulation. Subsequently, total RNA was extracted, and RNA-Seq libraries were prepared, followed by NGS-sequencing.

Bioinformatics analysis of transcriptomic data showed significant overlap of differentially expressed genes (DEGs) in the NaB-treated and TSA-treated groups. This suggests that different histone deacetylase (HDAC) inhibitors induce transcriptional changes in primary neuron cultures through common regulatory pathways, regardless of the chemical structure of the applied inhibitor. Histone deacetylase inhibition leads to a shift from proliferative mechanisms to cellular differentiation. GO analysis of DEG datasets revealed upregulated genes were involved in cell differentiation, tissue, embryonic morphogenesis, and development of varied peripheral tissues and organs. Contrary to expectations, genes that decrease expression under epigenetic rearrangement induction play a role in biological processes associated with cell proliferation and, notably, the differentiation of different types of brain cells, including neurons, astrocytes, and oligodendrocytes. The expression of several glial markers found in astrocytes and oligodendrocytes significantly diminished following HDAC inhibitor application. We confirmed these findings using targeted gene primer pairs and quantitative PCR methods. Furthermore, data analysis revealed a noticeable decline in neuronal markers associated with cytoskeletal organization, pre- and postsynaptic ending organization, and synaptic transmission.

Fine-tuning of various processes in the central nervous system is accomplished by the production of different isoforms of proteins from the same gene through alternative splicing of the resulting mRNA. Epigenetic rearrangements create an environment for regulating alternative splicing of different genes [2, 3]. Studies reveal that alternative isoform production plays a vital role in various plastic processes [4, 5]. Therefore, we used the IsoformSwitchAnalyzeR and DEXSeq packages to investigate the potential for alternative splicing in rat cortical neuron cultures induced with histone deacetylase inhibitors by assessing the abundance of transcripts based on exon usage. Our findings demonstrate alternative splicing in several glial genes and numerous neuronal genes, with a particular emphasis on those genes associated with postsynaptic organization and cell communication. Inhibition of HDAC activity in cortical neuron cultures primarily impacted the selection of alternative transcription starts and terminators, with a minor effect on alternative exon splicing. The observed outcomes were confirmed using specific quantitative PCR primers for distinct exons of various transcript isoforms.

In this study, histone deacetylases were found to play a critical role in the specialization of multiple brain cells, and when their activity is repressed, it affects the expression and alternative splicing of several neuronal and glial marker genes. Possibly, global transcriptome changes resulting from alternative splicing could lead to qualitative reorganization of neuronal networks, a promising avenue for future research.

Keywords: epigenetics; histone acetylation; transcription; alternative splicing; plasticity genes.

To cite this article:

Borodinova AA, Beletskiy AP, Balaban PM. Blockade of histone deacetylase activity affects transcription and splicing of neuronal and glial genes. *Genes & Cells*. 2023;18(4):698–701. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623416>

Received: 15.05.2023**Accepted:** 26.11.2023**Published online:** 20.01.2024

REFERENCES

1. Borodinova AA, Kuznetsova MA, Alekseeva VS, Balaban PM. Histone acetylation determines transcription of atypical protein kinases in rat neurons. *Scientific Reports*. 2019;9(1):4332. doi: 10.1038/s41598-019-40823-z
2. Hnilicová J, Hozefi S, Dušková E, et al. Histone deacetylase activity modulates alternative splicing. *PLoS One*. 2011. Vol. 6, N 2. P. e16727. doi: 10.1371/journal.pone.0016727
3. Kim YE, Park C, Kim KE, Kim KK. Histone and RNA-binding protein interaction creates crosstalk network for regulation of alternative splicing. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018;499(1):30–36. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.03.101
4. Ding X, Liu S, Tian M, et al. Activity-induced histone modifications govern Neurexin-1 mRNA splicing and memory preservation. *Nature Neuroscience*. 2017;20(5):690–699. doi: 10.1038/nn.4536
5. Sengar AS, Li H, Zhang W, et al. Control of long-term synaptic potentiation and learning by alternative splicing of the NMDA receptor subunit GluN1. *Cell Reports*. 2019;29(13):4285–4294.e5. doi: 10.1016/j.celrep.2019.11.087

AUTHORS' CONTACT INFO

* A.A. Borodinova; address: 5A Butlerov street, 117485 Moscow, Russian Federation; e-mail: borodinova.msu@mail.ru